

# L'appréciation de la Fécondité des taureaux à l'insémination artificielle

## Étude sur quelques problèmes relatifs à la mesure des facteurs de diffusion du sperme par méthode biologique

par M. BROCHART et P. VALETTE

L'amélioration du cheptel des territoires de la France d'outre-mer, par croisement ou sélection, ne peut qu'être favorablement influencée par l'utilisation de l'insémination artificielle partout où les conditions d'application de cette technique se trouvent réunies.

Le succès de l'insémination artificielle, que la semence soit récoltée sur les lieux mêmes de son utilisation ou importée de la Métropole par voie aérienne (10-11), est étroitement fonction de la fécondité des géniteurs producteurs de sperme.

Si la fécondité des taureaux ne peut, en définitive, être connue avec certitude que d'après le pourcentage des fécondations obtenues par insémination d'un grand nombre de femelles, il importe au plus haut point, faute du critère ci-dessus, de pouvoir estimer cette fécondité, même de façon relative, avant la mise en service définitive de ces reproducteurs.

En Europe, et plus particulièrement en France dans le cas qui nous intéresse, cette fécondité peut être estimée avec une approximation suffisante par l'examen des livres généalogiques, les performances des ascendants du reproducteur, son examen clinique et l'analyse complète de son sperme.

Outre-mer, la question se présente sous un aspect totalement différent. Bien rares sont les éleveurs autochtones qui peuvent indiquer avec précision l'origine d'un taureau paraissant particulièrement apte à être utilisé pour l'insémination artificielle. Trop souvent aucune indication valable sur les performances de ses ascendants ne pourra être obtenue.

Dans ce cas, seul le résultat de l'examen du sperme peut être de nature à orienter le zootechnicien sur l'opportunité d'utiliser le taureau comme donneur de sperme.

De nombreux chercheurs se sont évertués à établir des relations aussi étroites que possible entre

les caractéristiques biochimiques, biologiques, morphologiques et bactériologiques d'un sperme et son pouvoir fécondant.

Il y a quelques années, une importance considérable a été notamment attribuée à la teneur du sperme en un enzyme : la hyaluronidase, qui jouerait par sa présence un rôle décisif dans la fécondation.

Son existence dans le sperme a été mise en évidence en 1942 par Mc Lean et Rowlands. La teneur du sperme en hyaluronidase est apparue à Sherber, Birnberg et Kurzrok (1948) comme proportionnelle à la concentration en spermatozoïdes.

Cet enzyme a la propriété d'hydrolyser l'acide hyaluronique, lequel est présent dans divers gels visqueux de l'organisme (humeur vitrée, synovie, tissu conjonctif, cordon ombilical, etc.). Il dissout, en particulier, le gel visqueux de mucopolysaccharides qui cimente entre elles les cellules de la corona radia péri-ovocytaire.

On a démontré que, mis au contact de l'ovule, il déterminait la dénudation de l'ovocyte. On pensait qu'il favorisait ainsi la pénétration du spermatozoïde fécondant dans celui-ci.

On pensait également que la dissociation de ces cellules, exigeant une quantité relativement considérable d'enzyme, n'était possible qu'en présence d'un nombre suffisant de spermatozoïdes, chacun n'amenant avec lui qu'une faible partie de la quantité totale d'enzyme nécessaire.

On croyait avoir enfin l'explication de l'énorme disproportion entre le nombre de gamètes mâles et femelles intervenant dans l'acte de reproduction.

Depuis, il a été mis en évidence que la dissociation de la corona radia ne précède pas la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte et que la fécondation peut avoir lieu en présence d'un nombre très faible de spermatozoïdes. On pense actuellement que

la charge individuelle en hyaluronidase d'un spermatozoïde serait suffisante pour lui permettre de pénétrer dans l'ovocyte.

Il semble démontré que la stérilité de certains mâles serait due à une teneur insuffisante de leur sperme en cet enzyme.

Quoi qu'il en soit, si l'on ne connaît pas encore bien le mode d'action exact de la hyaluronidase, il semble acquis que cet enzyme joue un rôle qui, pour être moins décisif qu'il n'a été primitivement cru, n'en est pas moins certain.

Dans ces conditions, pouvoir mettre en évidence et doser la hyaluronidase d'un sperme présente une importance indiscutable pour l'appréciation de sa qualité.

Le dosage de cet enzyme peut être effectué par des méthodes physico-chimiques et des méthodes biologiques.

Les premières, relativement spécifiques, dans la mesure où elles mettent en évidence uniquement les hyaluronidases, qu'elles soient d'origine cellulaire ou bactérienne, sont sensibles, mais nécessitent l'emploi de solutions d'acide hyaluronique standard, de préparation difficile, non disponible dans le commerce, et l'usage d'appareils de laboratoire (viscosimètre, turbidimètre).

Selon ces méthodes, on ajoute au produit biologique à analyser une préparation d'acide hyaluronique et on mesure l'une ou l'autre des modifications physiques ou chimiques subies par le substrat sous l'influence de l'enzyme : chute de viscosité, diminution de la turbidité, apparition de corps réducteurs, inhibition de la formation de caillot (mucin clot preventing test).

Ces méthodes impliquent l'intervention de laboratoires spécialisés. Elles sont donc peu accessibles, même aux techniciens travaillant dans des stations d'élevage parfaitement équipées, alors que la méthode biologique de dosage de la hyaluronidase semble devoir être beaucoup plus accessible aux chercheurs disposant d'un laboratoire même modestement conçu.

La méthode biologique est basée sur la propriété fondamentale, mise en évidence par Duran-Reynals (2), qu'ont les facteurs de diffusion, dont la hyaluronidase fait partie, d'accélérer la vitesse de diffusion de colorants injectés par voie intradermique dans la peau d'un lapin ou d'un cobaye.

Le principe de cette méthode consiste à comparer la superficie de deux taches colorées obtenues après injection dans la peau, de part et d'autre de la ligne blanche de l'animal choisi, d'un volume identique d'une solution colorée pure et d'une solution contenant, outre le même colorant, une quantité définie du produit à doser.

Cette méthode met en évidence, non seulement

les hyaluronidases cellulaires et bactériennes, mais tous les facteurs de diffusion en général, qu'ils soient enzymatiques (mésomucinases) ou non enzymatiques (vitamine C, peptones, lécithines, composés diazoïques, etc.) (3). Elle est donc encore moins spécifique que les méthodes physico-chimiques; par contre, elle est d'une technique relativement simple et très accessible dans les conditions de la pratique.

Humphrey (9) a montré que le phénomène de diffusion ainsi mis en évidence était fonction du logarithme du taux en facteurs de diffusion du produit examiné.

L'unité de mesure utilisée par ces auteurs est la quantité de facteurs de diffusion qui augmente la plage expérimentale de 20 % par rapport à celle de la plage témoin.

Jacquet, appliquant, après légère modification, la méthode de Duran-Reynals à l'étude du sperme de plusieurs taureaux utilisés pour l'insémination artificielle, a relevé une relation positive entre le taux de facteurs de diffusion du sperme et la fécondité de ces reproducteurs.

Par contre, de nombreux expérimentateurs utilisant les méthodes physico-chimiques, ne sont parvenus qu'à des résultats très contradictoires.

Nous avons pensé que de telles divergences dans les résultats obtenus pouvaient provenir, dans une certaine mesure, de causes techniques, et il nous a paru intéressant de reprendre quelques-unes de ces causes pour étudier leur influence respective dans la mesure des facteurs de diffusion.

Nous nous sommes particulièrement attachés à étudier :

1° L'influence de la technique même de l'injection et de la stérilité des solutions utilisées pour la mesure;

2° Les limites de l'erreur expérimentale en fonction du nombre d'animaux utilisés pour chaque mesure;

3° L'influence de l'échantillonnage, c'est-à-dire le nombre nécessaire de mesures sur des éjaculats différents pour donner une approximation suffisante de la valeur du sperme pour le caractère envisagé;

4° L'influence de la conservation du spermé sur la mesure.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel.

**Sperme.** — Le sperme qui a servi à nos expériences provient d'un seul taureau dont les éjaculats ont été récoltés au cours des mois de juillet et août 1952.

Cette semence a été testée, soit aussitôt après la récolte, soit après une période variable de conser-

vation, allant de vingt-quatre à cent vingt heures, suivant les cas.

**Cobayes.** — Nous avons uniquement utilisé, comme animaux d'expérience, des cobayes, au nombre de 50, des deux sexes, de tous âges, tous à ventre blanc et quelques-uns albinos.

Cette population de cobayes a été d'autant plus hétérogène que les animaux ont été achetés à des élevages différents.

**Colorant.** — Le colorant utilisé a été de l'encre de Chine « Biolyon » spéciale pour la bactériologie et l'histologie, diluée en sérum physiologique stérile, soit préparé extemporanément, soit provenant d'ampoules stérilisées préparées à l'avance.

Au cours de l'expérimentation, l'encre de Chine a été tyndallisée à plusieurs reprises.

### Méthodes.

La méthode employée est celle de Jacquet et est une variante de la méthode Duran-Reynals.

A l'aide d'une solution mère contenant 20 gouttes d'encre de Chine « Biolyon » pour 5 cm<sup>3</sup> de sérum physiologique stérile, on prépare :

— une solution témoin, en mélangeant, dans un tube à essai, 0,5 cm<sup>3</sup> de la solution mère et 0,5 cm<sup>3</sup> de sérum physiologique ;

— la solution expérimentale, en mélangeant 0,5 cm<sup>3</sup> de la solution mère et 0,5 cm<sup>3</sup> du sperme à doser.

0,5 cm<sup>3</sup> de la solution témoin est injecté, par voie strictement intradermique, dans la peau rasée d'un cobaye, au niveau de la paroi abdominale.

Il se produit alors une boule au lieu d'injection, longue à se résorber. Au bout d'une heure, temps que Jacquet considère comme optimum pour la lecture des résultats, une plage circulaire colorée en noir, mate et non suintante, diffuse tout autour du lieu d'injection.

Aussitôt la première injection terminée, on injecte 0,5 cm<sup>3</sup> de la solution à examiner à un endroit de la peau absolument symétrique par rapport à celui ayant reçu la solution témoin. En général, le liquide injecté diffuse immédiatement.

Au bout d'une heure, la plage ainsi obtenue est nettement plus grande que la plage témoin, plus claire, d'aspect brillant et très souvent suintante.

La taille de cette plage est proportionnelle au taux de facteurs de diffusion et, en particulier, de hyaluronidase contenu dans le sperme, qui ont permis à l'encre de Chine de diffuser largement dans le tissu intradermique.

Une grande importance doit être attachée à la technique de l'injection, car lorsque l'injection de la solution témoin a été mal réalisée, on obtient le plus souvent une large tache de diffusion, la solution

colorante s'étendant rapidement dans le tissu conjonctif sous-cutané.

Les dimensions des taches de mesure et témoins que nous avons obtenues après une heure de diffusion sont nettement supérieures aux valeurs signalées par Jacquet. Il est possible que l'origine de cette différence provienne de la nature de l'encre de Chine utilisée.

Injectant solution témoin et solution expérimentale, de part et d'autre de la ligne blanche, nous avons obtenu dans la majorité des cas, des plages non pas circulaires mais plutôt elliptiques dont le plus grand diamètre était parallèle à l'axe antéro-postérieur des animaux utilisés (fig. 1).

Pour établir une relation mathématique entre la superficie des deux taches, et compte tenu de leur forme relativement elliptique, il nous a paru indiqué de prendre la moyenne du petit et du grand diamètre de chaque tache, moyenne plus représentative de la diffusion que l'utilisation d'un seul diamètre.

Pour les grandes taches, cette mesure est affectée d'une légère erreur par défaut, du fait de l'incurvation de la surface ventrale.

La mesure est effectuée avec un pied à coulisse.

Les résultats obtenus sont exprimés, selon Jacquet, en « U.J. », c'est-à-dire par la différence en millimètres des diamètres moyens des taches témoin et expérimentale, expression qui rend compte, dans une certaine mesure, de la nature logarithmique du processus de diffusion.

Les caractéristiques du sperme frais et conservé ont été établies suivant des méthodes déjà décrites (1).

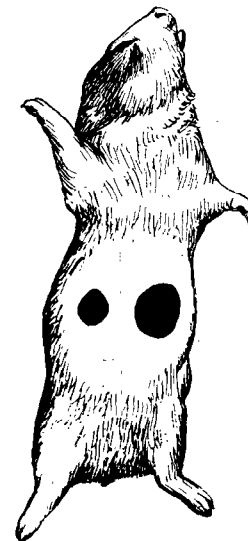


Fig. 1.

## RÉSULTATS

### I. — Influence de la stérilité des solutions.

Nous avons observé qu'il était indispensable que le sérum physiologique utilisé soit stérile, ce qui peut paraître évident mais correspond à une précaution susceptible d'être omise.

Lorsque le sérum physiologique utilisé est contaminé, les facteurs de diffusion bactériens interfèrent de façon importante avec l'enzyme provenant des spermatozoïdes. En effet, la solution témoin contient

TABLEAU I

Résultats du dosage des facteurs de diffusion de cinq éjaculats  
au moyen de trois cobayes par échantillon.

EXPÉRIENCE	TAUX DE FACTEURS DE DIFFUSION en unités U. J.				ÉCART MAXIMUM par rapport à la moyenne
	Cobayes n°			Moyenne	
	1	2	3		
N° 1	18	19	16	17,6	1,6
N° 2	20	14	15	16,3	3,7
N° 3	17	13	16	15,5	2,5
N° 4	14	17	13	14,6	2,4
N° 5	20	18	21	19,6	1,6

deux fois plus de sérum physiologique que la solution de sperme; on obtient par suite, lors de la contamination du sérum, une diffusion très considérable de la tache témoin, dont la surface peut être même supérieure à celle de la tache expérimentale, ce qui peut amener une valeur d'U.J. négative.

Pour la même raison, il est utile de stériliser, par tyndallisation, l'encre de Chine au fur et à mesure du déroulement des expériences.

L'encre de Chine étant utilisée en quantité identique pour l'obtention des deux plages, sa pollution n'a qu'une influence relative sur le résultat obtenu. Elle présente cependant l'inconvénient de donner lieu à des taches de très grande superficie.

## II. — Erreur expérimentale en fonction du nombre de cobayes utilisés.

Cinq éjaculats ont été examinés à raison de trois cobayes par expérience.

Les résultats qui figurent au tableau I montrent que les valeurs obtenues pour chaque expérience sont assez homogènes.

Pour une expérience, l'écart maximum entre un résultat isolé et la moyenne des trois mesures n'a pas dépassé 19 % de la valeur du premier. Cet écart est sensiblement moindre pour les 4 autres expériences. Il est en moyenne de 14 % pour les 5 expériences.

Il ressort de ces résultats que, dans le cas le plus

TABLEAU II

Taux de facteurs de diffusion et quelques autres caractéristiques de 10 échantillons de sperme.

EXPÉRIENCE	FACTEURS de diffusion	NOMBRE de cobayes	MOTILITÉ (notée de 0 à 4)	RÉDUCTION (minutes)	pH	CONCENTRATION en millions spz par mm <sup>3</sup>		MOTILITÉ après 72 heures	VARIATION de pH après 72 heures
						totaux	vivants		
N° 1	18	3	4	3	6,3	1,7	1,5	»	»
N° 2	16	3	4	9	6,2	0,7	0,5	»	»
N° 3	15	3	4	5	6,3	0,7	0,6	»	»
N° 4	15	3	4	5	6,2	0,7	0,5	»	»
N° 5	20	3	4	3	6,2	0,8	0,7	»	»
N° 6	20	1	4	5	6,2	0,7	0,6	2	+ 0,1
N° 7	16	1	4	6	6,3	0,9	0,8	3	+ 0,0
N° 8	17	1	4	4	6,1	1,2	1,1	3-4	+ 0,0
N° 9	20	1	4	7	6,2	0,7	0,6	2-3	+ 0,1
N° 10	4	1	4	8	6,3	0,7	0,7	1	+ 0,3

défavorable, un résultat isolé peut être supérieur ou inférieur de 20 % à la valeur moyenne obtenue avec trois cobayes.

Lorsqu'on prend les moyennes de deux épreuves de chaque expérience (ce qui fait 3 moyennes par expérience : moyennes des expériences 1 et 2, 1 et 3, 2 et 3) l'écart maximum entre la moyenne de deux résultats et la moyenne des trois résultats ne représente, dans le cas le plus défavorable, que 12 %.

Il semble donc qu'une précision très satisfaisante puisse être obtenue en utilisant seulement deux cobayes par éjaculat.

### III. — Influence de la nature de l'échantillon.

L'examen de 10 éjaculats, dont 5 ont été testés avec 3 cobayes et 5 à l'aide d'un seul cobaye, donne des valeurs voisines et normales, à l'exception d'un seul cas (expérience n° 10, tableau II).

Pour les 9 échantillons ayant donné des résultats normaux, le taux de facteurs de diffusion s'échelonne entre 15 et 20 U.J., avec une moyenne de 17 U.J., moyenne qui correspond à celle la plus fréquemment rencontrée par Jacquet (6).

La valeur de 4 U.J. trouvée dans l'expérience 10 est très nettement inférieure à celle des autres éjaculats.

Selon Jacquet (4), les taureaux dont le sperme présente un taux de facteurs de diffusion inférieur à 12 U.J. ont une fécondité médiocre ou mauvaise.

Tous les échantillons testés provenant d'un même taureau, la très faible teneur en facteurs de diffusion de l'échantillon ayant fait l'objet de la 10<sup>e</sup> expérience peut s'expliquer par une erreur expérimentale si l'on tient compte, surtout, que dans cette expérience un seul cobaye a été utilisé.

Il y a lieu cependant de préciser que, si les caractéristiques initiales de cet éjaculat (test de la réductase, pH, motilité, concentration et pourcentage des spermatozoïdes vivants) ne sont pas très différentes de celles des 9 autres éjaculats, son comportement en cours de conservation a été particulier. En effet, la perte de la motilité des spermatozoïdes a été très rapide et l'augmentation du pH de cet éjaculat a été beaucoup plus importante que celle des autres.

S'il n'est pas permis de tirer des conclusions définitives de ce cas unique, on peut cependant émettre l'hypothèse qu'un éjaculat de faible concentration initiale en facteurs de diffusion peut présenter concurremment d'autres anomalies physiologiques et, éventuellement, morphologiques, pouvant découler de troubles de la spermatogénèse ou de la spermiogénèse, d'altérations par sénescence (repos sexuel prolongé, etc.).

Quelle que soit la cause ayant déterminé un abaissement très sensible du taux de facteurs de

diffusion de l'éjaculat de la 10<sup>e</sup> expérience, le fait que l'examen sur 10 a donné une valeur anormalement basse et en dehors de la limite de variation des 9 autres échantillons examinés, indique la nécessité de répéter l'examen, lors de l'obtention d'une valeur isolée anormalement faible.

Si l'on fait abstraction des résultats de l'expérience n° 10, on constate que le résultat de l'examen des 4 éjaculats effectué sur un seul cobaye par éjaculat, a donné comme valeur moyenne 18 U.J., alors que la moyenne obtenue pour 5 éjaculats examinés chacun avec 3 cobayes a été de 17 U.J.

La moyenne générale pour la totalité des échantillons examinés étant de 17 U.J., il semble qu'une précision suffisante peut être obtenue en testant un nombre d'éjaculats réduit au moyen d'un seul cobaye par épreuve.

Des résultats relativement homogènes ayant été obtenus au cours des expériences précédentes, avec une population très hétérogène de cobayes, il semble que l'individualité de ces derniers n'a que peu ou pas d'influence sur les résultats obtenus.

### IV. — Influence de la conservation à 4° sur l'évolution de la teneur en facteurs de diffusion.

Dans 4 expériences (tableau III — n°s 6, 7, 8 et 9, correspondant aux mêmes expériences du tableau II), sur 5, une diminution du taux de facteurs de diffusion au cours des soixante-douze premières heures de la conservation à 4° du sperme non dilué, est observée.

Cette diminution est accompagnée d'une chute de la motilité, d'une augmentation du pourcentage des spermatozoïdes morts, ainsi que du taux de la réductase.

La chute du taux de facteurs de diffusion est parfois sensible dès la vingt-quatrième heure. Elle est nette à la quarante-huitième heure et atteint 64 % du taux initial à la soixante-douzième heure (moyenne pour les 4 expériences).

Après soixante-douze heures de conservation, dans 3 expériences sur 4 (n°s 7, 8, 9), nous avons observé une augmentation assez sensible du taux des facteurs de diffusion alors qu'en ce qui concerne la 4<sup>e</sup> expérience, cette augmentation s'est manifestée dès la vingt-quatrième heure.

Les causes de la diminution initiale du taux des facteurs de diffusion seront discutées ultérieurement.

Leur augmentation paraît être la conséquence de la prolifération bactérienne. En effet, lorsque l'activité métabolique des spermatozoïdes décroît et que la compétition entre ceux-ci et les bactéries s'atténue au bénéfice de ces dernières, leur multiplication qui prend alors une importance considérable est la source d'une production accrue de facteurs de diffusion.

TABLEAU III

Évolution du taux de facteurs de diffusion et de certaines caractéristiques du sperme au cours de la conservation.

EXPÉRIENCE	DURÉE de conservation (en heures)	FACTEURS de diffusion (U. J.)	MOTILITÉ (notée de 0 à 4)	RÉDUCTASE (en minutes)	pH	SPERMATOZOIDES vivants millions par mm <sup>3</sup>
N° 6	0	20	4	5	6,2	0,64
	24	12	4	6	6,3	0,64
	48	7	2-3	10	6,3	0,41
	72	4	4	20	6,3	0,32
N° 7	0	16	4	6	6,3	0,81
	24	10	3	9	6,3	0,72
	48	10	2-3	10	6,3	0,62
	72	10	2-3	10	6,3	0,62
	96	18	1	16	6,4	0,37
	120	19	0,1	25	6,4	0,28
N° 8	0	17	4	4	6,1	1,15
	24	17	4	6	6,1	1,00
	72	10	3-4	8	6,1	0,85
	120	19	2	10	6,0	0,69
N° 9	0	22	4	7	6,2	0,68
	24	19	4	10	6,2	0,49
	48	12	3	12	6,1	0,41
	96	26	1-2	11	6,3	0,35
N° 10	0	4	4	8	6,3	0,67
	24	14	4	13	6,4	0,56
	72	19	1	22	6,6	0,45
	120	15	0	40	6,6	0,18

Si une telle compétition n'existe pas, il est possible qu'on observe d'emblée une augmentation du taux des facteurs de diffusion d'origine bactérienne. Ainsi pourrait s'expliquer le résultat obtenu lors de l'expérience n° 10 où l'augmentation de ces facteurs a eu lieu dès le début de la conservation et où les caractéristiques métaboliques de l'échantillon de sperme étaient faibles.

L'influence de la contamination bactérienne nous paraît confirmée par l'expérience suivante : un éjaculat a été divisé en deux parties dont l'une a été conservée sans antibiotiques et l'autre conservée

par addition de 1 milligramme de streptomycine et 1 milligramme de pénicilline par centimètre cube de sperme.

Dans les deux fractions une chute identique du taux des facteurs de diffusion a été observée, suivie après quarante-huit heures d'une faible augmentation dans le sperme contenant des antibiotiques (+ 35 % de la valeur atteinte après quarante-huit heures) alors que dans le sperme sans antibiotiques cette augmentation a été de 117 % (fig. 2 et tableau IV).

De cette série d'expériences il résulte que le dosage biologique des facteurs de diffusion dans un



TABLEAU IV

Influence des antibiotiques sur l'évolution du taux des facteurs de diffusion et de quelques autres caractéristiques du sperme au cours de la conservation à 4°.

DURÉE de conservation (heures)	TAUX DE FACTEURS de diffusion		MOTILITÉ (notée de 0 à 4)		RÉDUCTASE (en minutes)		pH		SPERMATOZOÏDES vivants en millions par mm <sup>3</sup>	
	sans antibiotique	avec antibiotique								
	O	A	O	A	O	A	O	A	O	A
0	20	22	4	»	7	»	6,2		0,68	»
24	19	19	4	4	10	10	6,2	6,2	0,48	0,48
48	11	12	3	3	13	13	6,3	6,1	0,41	0,41
96	16	26	2	1	29	14	6,3	6,3	0,39	0,35

sperme doit être pratiqué aussi près que possible de la récolte, récolte qui devra être faite dans les meilleures conditions de propreté.

#### Discussion

La majorité des auteurs qui ont étudié uniquement par les méthodes physico-chimiques l'évolution du taux de facteurs de diffusion du sperme en cours de sa conservation, ont observé une augmentation de ce taux due à la contamination bactérienne et également à la libération par les spermatozoïdes de l'enzyme à doser (8).

Ces résultats sont en contradiction avec les nôtres dans la mesure où nous avons observé, antérieurement à l'augmentation finale, une diminution préliminaire du taux de ces facteurs.

Cette divergence dans le résultat est sans doute liée au fait que, par la méthode biologique, on mesure la totalité des facteurs de diffusion. Il est vraisemblable que la vitamine C, notamment, interfère avec la hyaluronidase des spermatozoïdes.

Le sperme est, en effet, très riche en vitamine C. Son taux diminue par oxydation au cours de la conservation et cette diminution pourrait masquer la libération de l'enzyme par les spermatozoïdes.

En tout état de cause, cette diminution initiale et l'augmentation, le plus souvent secondaire mais parfois primitive, du taux de facteurs de diffusion, impliquent un dosage effectué rapidement après la récolte.

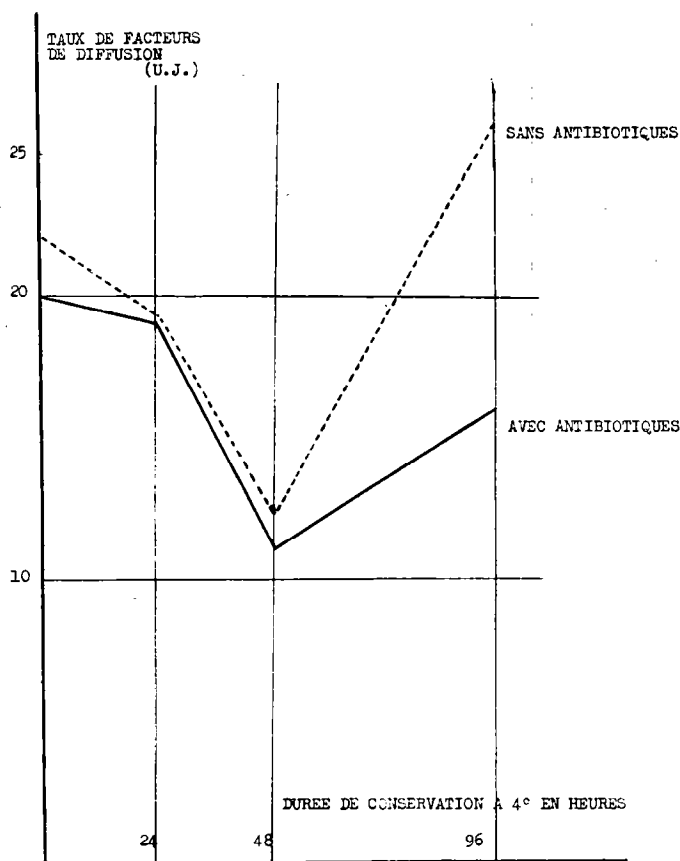


Fig. 2.

Influence de l'addition d'antibiotiques sur l'évolution du taux de facteurs de diffusion au cours de la conservation du sperme à 4°.

Il importe également d'envisager dans quelle mesure des interférences possibles des facteurs de diffusion non enzymatiques, tels que la vitamine C,

et bactériens, sont susceptibles de fausser les résultats obtenus avec le sperme frais.

Le fait que la méthode biologique dose simultanément la hyaluronidase du sperme et la vitamine C ne constitue pas un inconvénient. Ce peut être même un avantage, la vitamine C étant favorable à la survie des spermatozoïdes et au maintien du pouvoir fécondant.

Par contre, l'interférence avec la hyaluronidase bactérienne, également possible dans le sperme frais, qui peut parfois être massivement contaminé, est beaucoup plus préjudiciable.

Seul un contrôle microbien du sperme par les méthodes classiques de numération microbienne ou, plus simplement, par catalasimétrie, permettrait de conférer aux résultats une valeur certaine.

### RÉSUMÉ

Le taux des facteurs de diffusion de 10 échantillons du sperme d'un taureau a été déterminé par la méthode biologique, au cours d'une période de deux mois.

Les deux principales précautions expérimentales à respecter sont :

— la stérilisation des solutions utilisées;

— une injection témoin correctement effectuée en région intradermique.

Une bonne estimation de la valeur moyenne du sperme en facteurs de diffusion a été obtenue au moyen de 4 épreuves effectuées avec un seul cobaye par examen. La possibilité de variations négatives importantes selon les échantillons du taux de facteurs de diffusion nécessite la répétition des épreuves lors d'un examen isolé défavorable.

L'hétérogénéité de la population des cobayes utilisés ne paraît pas avoir influencé les résultats.

Des variations négatives et positives importantes du taux de facteurs de diffusion au cours de la conservation à 4° du sperme non dilué ne permettent pas un examen différé.

La possibilité d'une interférence avec la vitamine C du sperme lors du dosage des facteurs de diffusion est discutée. La mesure des facteurs de diffusion du sperme gagnerait à être doublée par un contrôle microbien du sperme frais, afin d'éliminer les causes d'erreur dues aux facteurs de diffusion bactériens.

*Laboratoire d'insémination artificielle de l'École nationale vétérinaire d'Alfort (I.N.R.A.) et Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des pays tropicaux.*

### BIBLIOGRAPHIE

1. BROCHART M. — **Reproduction des bovins.** La Bibliothèque française, Édit. Paris 1949.
2. DURAN-REYNALS. — *F.C.R. Soc. Biol.*, 99, 6, 1928.
3. DURAN-REYNALS. — *Bacter. Rev.*, 6, 197, 1942.
4. JACQUET J. — Publication de l'U.N.C. E.I.A., avril 1950.
5. JACQUET J. — *Cahiers Méd. Vét.*, 20, 105, 1951.
6. JACQUET J. — *Bull. Acad. Vét.*, 25, 161, 1952.
7. JACQUET, PLESSIS et CASSOU. — *C.R. Acad. Sci.*, 232, 1252, 1951.
8. JOHNSTON J.-E. et MIXNER J.-P. — *J. Anim. Sci.*, 7, 440, 1948.
9. HUMPHREY. — *Biochem. J.*, 1943, 37, 177.
10. LETARD C., SZUMOWSKI P. et ARRUTI J. — *C.R. Acad. Agric.*, 35, 659, 1949.
11. SAUVEL R. — **L'insémination artificielle chez la vache, la brebis et la jument.** Publication du centre de documentation de l'Institut d'Élevage et de Médecine vétérinaire des pays tropicaux (Polycopie 1950).